



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“Crecimiento poblacional y análisis proximal de proteínas y lípidos del cladócero *Moina macrocopa* (Straus, 1820) alimentado con cinco dietas”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

CASTAÑEDA ROSILLO SANDRA JANET

DIRECTORA DE TESIS:

M. en C. TERESA RAMÍREZ PÉREZ



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Les doy infinitas gracias a mi familia por permanecer unida y porque cada miembro de ella tuvo en mi una cierta influencia en algún momento de mi vida. Por ejemplo cuando le anunciaban a mi madre que tenía que presentarse por mi bajo rendimiento escolar en la primaria o en la secundaria y que reprobaría tercero porque llevaba reprobados los tres bimestres en matemáticas y luego mis hermanas tenían que dedicarme tiempo para que pudiera aprobar con buena calificación los siguientes bimestres restantes y salvar mi año escolar. Posteriormente cuando vimos el resultado para mis estudios de bachillerato los cuales fueron en el CCH Vallejo y para nuestra sorpresa en turno vespertino, mi madre pensaba cambiarme de escuela inmediatamente e inscribirme en otro sitio agradezco que no lo hizo, termine mi bachillerato exitosamente y sin problemas. Para el último año me encontraba tomando una decisión importante en la vida ¿Qué es lo que quiero ser en un futuro?, a la pregunta era una situación delicada y sin una respuesta clara, me pregunte ¿y si escojo odontología?, no mejor diseño industrial o ¿si estudio geografía? o mejor aun quiero estudiar biología la cual siempre me atrajo desde la primaria con la materia “ciencias naturales”, la secundaria y el bachillerato “biología” siempre fue mi materia predilecta, pues si así fue esta mi elección sin consultar su plan de estudios, sin saber ¿cuál es el papel de un biólogo en la sociedad?, ¿qué es lo que hace un biólogo?, y lo principal ¿de qué trabaja un biólogo?, además de ¿en dónde trabaja?, y pues yo solita me conteste en mi ignorancia pues de docente y me dije además adiós a las matemáticas, lo cual fue un grave error mis suposiciones.

Al entrar a la carrera me di cuenta que la biología tiene muchas ramas, que es muy compleja, que requiere de las matemáticas, que se necesitan desarrollar muchas habilidades y estrategias para salvar el semestre, al inicio sin mentirles fue complicado porque era mucha terminología que abría que adoptar, mucho que estudiar y me di cuenta que no funcionaba el trabajo de la forma individualista porque resultaba una forma más costosa energéticamente y la probabilidad de sobrevivencia era menor, adopte el trabajo en equipo con funciones especializadas para cada miembro y también estar alerta a los cambios, para la implementación de una estrategia que me permitiera aprender fácil, en poco tiempo y ser una buena estudiante. Pues haciendo cambios positivos me trajo muchos beneficios y sobretodo aprendí a ser una persona tenaz y terminar mis estudios por convicción, no por obligación, me di cuenta que las cosas difíciles me emocionaban mucho los retos, que una persona como yo pudiera intentar para finalmente lograrlo, no sabía cómo le iba a hacer pero tenía que esforzarme en una inversión de tiempo, para dejar de lado el

entretenimiento y que la fuerza de voluntad hiciera lo suyo, aun que no definitivamente no, le gano la convicción.

En la carrera conocí mucha gente, algunos compañeros desertaron, otros cambiaron de carrera y otros más seguimos el camino, estoy muy agradecida con esta casa de estudios desde el día que obtuve un lugar en ella y ahora que concluyo mi estancia en ella, sin duda fueron los mejores años de mi vida y lo mejor de todo: “la carrera enterita” fue un desafío total, las maravillosas prácticas de campo en sitios como: Isla Verde, Zihuatanejo, cada sitio es inolvidable el paisaje, el mar con su arrecife, el bosque, la selva, las dunas, cada actividad realizada los muestreos, el trabajo de campo sin importar si llovía, si no había sombra, si hacía mucho calor o frío, si el camino era peligroso, o había animales peligrosos, sin importar si estábamos mojados, con piedritas o arena en las botas, con los pies mojados, con hambre, sed, o sucios de sudor o enlodados, pero con material recolectado y de regreso al hotel a trabajarlo.

Agradezco a cada uno de mis profesores, pero en especial mención a usted M. en C. Teresa Ramírez Pérez mejor conocida con la maestra “Tere”, recuerdo el día que me dijo que yo era casi una profesionalista, por la cual le di más seriedad a esta situación, le agradezco las horas invertidas, su paciencia. Recuerdo que no nos íbamos del laboratorio hasta terminar el trabajo, otros días comíamos en el laboratorio, pasamos todo año en el laboratorio, también cuando llovía muy fuerte. Usted maestra como yo le he llamado siempre con respeto ha sido una persona clave en mi desempeño escolar y también me enseñó a volverme una persona organizada, responsable, muy cuidadosa y también a aprender por mí. Siempre trate de cumplir de la mejor manera el trabajo aun que pasara por algún momento difícil, alguna vez lo acepto estuve a punto de desertar pero no lo permitimos.

Agradezco a las personas que siempre estuvieron ahí presente en la carrera y en las ultimas: Vero Guerra gracias por ayudarme con fisicoquímica y también porque fuimos un buen equipo por tres semestres, a los que eran mis conocidos y nuestra relación se enlazo fuertemente convirtiéndose en mis amigos: Estela Ruiz, Tomás Almeida, Maricarmen Gómez, Laura Bucio y a ti Leonardo Tellez por enseñarme a escuchar mis aspiraciones y acompañarme a cumplir el mayor de mis sueños, sin duda hiciste que el último semestre fuera el mejor de mi carrera y de mi vida. ¡Gracias!.

Agradezco a mis sinodales:

Dr. Subrahmanya Sarma Singaraju Sri y Dra. Nandini Sarma por sus observaciones, propuestas y consejos en el presente trabajo, además del material bibliográfico proporcionado.

A la Dr. Lucia Pavón por la asesoría en la identificación de *Moina macrocopa* y por los consejos.

A los profesores: M. en C. Mario Fernández y Dr. Héctor Hernández por su tiempo, disposición, observaciones y el apoyo del material brindado en el Laboratorio de Producción Acuícola (Acuario “Mtro. Luis Cifuentes Lemus”).

A los profesores, amigos y compañeros:

Del Laboratorio de Zoología Acuática por sus enseñanzas y valiosos consejos en especial a los M. en C. Cristián Espinoza, M. en C. Ligia Rivera y M. en C. Alma Núñez.

Del Laboratorio de Microscopía del PILT en especial a las M. en C. Aideé Montiel y M. en C. Miriam Chávez por sus enseñanzas y motivación.

Al Dr. Alfonso Lugo y a la M. en C. Laura Peralta por su atención, consejos y enseñanzas.

Del Laboratorio de Producción Acuícola en especial a la M. en C. Topacio Meza y al Biól. Daniel Ávila por el apoyo y la asesoría brindada.

¡Muchas Gracias! .

Índice

I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	3
III. Justificación.....	4
V. Objetivos.....	5
General.....	5
Específicos.....	5
VI. Material y Método.....	6
Obtención del alimento	6
Microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Scenedesmus</i> sp.	6
Obtención del cladócero	7
Obtención de biomasa seca.....	9
Análisis proximal de proteínas y lípidos	9
VII. Resultados.....	10
VIII. Análisis.....	16
Crecimiento poblacional y Densidad máxima poblacional	16
Día de densidad máxima poblacional.....	16
Tasa de incremento poblacional por día (r).....	16
Porcentaje de proteínas y lípidos	17
IX. Discusión.....	18
Densidad máxima poblacional.....	18
Día de Densidad máxima poblacional	18
Tasa de incremento poblacional (r)	19
Análisis proximal de proteínas y lípidos	19

Proteínas	20
Lípidos	21
X. Conclusiones.....	23
XI. Referencias.....	24
XII. Anexos.....	28
Anexo 1. Fotográfico	28
Anexo 2. Características del grupo Cladocera.....	30
Anexo 3. Aspectos biológicos de <i>M. macrocopa</i>	31
Anexo 4. Medio de cultivo basal Bold (Borowitzka y Borowitzka 1988).....	33
Anexo 5. Técnica de cuantificación de proteína por método de micro Lowry (Olvera et al.1993).....	35
Anexo 6. Técnica de cuantificación de lípidos totales por el método de Bligh y Dyer (1959).....	36
Anexo 7. Parámetros poblacionales y porcentaje proteico y lipídico de <i>M. macrocopa</i>	37

I. Introducción

El zooplancton agrupa a los organismos que viven suspendidos en el agua y por lo general no son capaces de nadar contra la corriente, en aguas continentales consiste principalmente en larvas (insectos, moluscos y peces), protozoos (ciliados y flagelados), rotíferos y microcrustáceos como copépodos y cladóceros (Lampert y Sommer 2007), siendo éstos dos últimos grupos dominantes en términos de abundancia, biomasa, producción y regeneración de nutrientes (Flores *et al.* 2003). Entre los crustáceos se incluyen a los cladóceros y copépodos; los primeros son preferidos como alimento por la mayoría de las larvas de peces y crustáceos superiores debido a su espasmódico movimiento y mayor visibilidad a diferencia de los copépodos, los cuales nadan demasiado rápido para ser capturados y consumidos (Loh 2011). Los cladóceros actúan como un enlace en la red trófica juegan una función importante en la transferencia de energía a partir de productores primarios hacia consumidores secundarios y terciarios (Sarma *et al.* 2005), en sus hábitats se alimentan de una gran variedad de partículas del seston como bacterias, algas, partículas de materia orgánica y protistas (Alva *et al.* 2007). El cladóceros *M. macrocopa* es tolerante, resistente y de amplia distribución (Martínez y Gutiérrez 1991) ha recibido cierto interés por lo que se utiliza en acuicultura como “alimento vivo”, las características de historia de vida, los parámetros poblacionales, el análisis de la calidad nutricional de los cladóceros y la cuantificación de los organismos se han evaluado suministrándoles diferentes tipos de dietas inertes y vivas (Peña *et al.* 2005; Otero *et al.* 2013). La nutrición es un aspecto relevante en la vida de los organismos constituyendo uno de los principales problemas en los cultivos (Luna *et al.* 2010), también se ha observado que algunos alimentos no contienen los nutrientes que las especies requieren para su crecimiento óptimo (Romero 2009) y los requerimientos nutricionales pueden variar entre las mismas especies según la etapa de desarrollo en la que se encuentren a lo largo de su ciclo de vida (Halver y Hardy 2002).

El aporte nutricional de proteínas y lípidos en los organismos en cultivo es esencial debido a la función estructural y metabólica que realizan en todo el cuerpo de los organismos. Las proteínas son componentes básicos para cada tipo celular del cuerpo, influyen en diversas moléculas biológicas, como precursores de la biosíntesis estructural de la hemoglobina, quitina y bases purinas también, forman parte de las coenzimas, neurotransmisores, hormonas, aminos biogénicas, etc.

Los lípidos tienen importantes funciones y propiedades estructurales, tienen la capacidad de acumular cercanamente el doble de energía en sus enlaces químicos a diferencia de las proteínas y carbohidratos (Macedo y Pinto 2000), son las más importantes reservas de energía para el zooplancton como es el caso de crustáceos planctónicos. El aprovechamiento de proteínas y lípidos depende de numerosos factores como el tipo de dieta, forma química de los aminoácidos suplididos y numerosos factores biológicos (especie y estado de maduración) (Halver y Hardy 2002). En la actualidad han sido utilizados varios tipos de alimentos como los inertes (con ingredientes nutritivos y balanceados), detritus, bacterias y microalgas verdes en el mantenimiento y producción de “alimento vivo” de los cuales ésta última opción es una fuente importante de proteínas y lípidos y han sido documentados sus efectos positivos en el crecimiento poblacional de *Moina*.

II. Antecedentes

- Wantanabe *et al.* (1983) reportaron el porcentaje de proteínas y lípidos en alimento vivo para trucha y tilapia entre ellos *Moina* sp. cultivada en levadura, levadura + estiércol de ave y estiércol de ave.
- En *Moina micrura* el mejor crecimiento poblacional y la mayor acumulación de lípidos fue reportado por Macedo y Pinto (2000) con la microalga *Ankistrodesmus gracilis* a diferencia de *Scenedesmus quadricaudata*.
- Los valores nutricionales obtenidos en *M. micrura* reportados por Habib *et al.* (2003), mostraron que la tasa de incremento poblacional, el contenido proteico y lipídico fueron significativamente altos con *C. vulgaris* cultivada en efluente de aceite de palma al 10%.
- El crecimiento poblacional de *M. macrocopa* determinado por Peña *et al.* (2005) mostró que las dietas mixtas a base de microalgas presentan las mayores densidades.
- Prieto *et al.* (2006) demostraron que las dietas mixtas son más efectivas en el cultivo del cladóceros *Moina* sp. obteniendo los mejores resultados con *Ankistrodesmus* sp. + levadura, a diferencia de la microalga sola.
- La densidad poblacional máxima de *M. macrocopa* cultivada en dos densidades de la microalga *Scenedesmus* sp. (0.65 y 1.3×10^6 cel/ml) fue reportada por Romero-López (2009) Concluyendo que no existen diferencias significativas en las densidades poblacionales de *M. macrocopa*.

III. Justificación

El cladóceros *M. macrocopa* se aprecia como un recurso nutricional en el cultivo de peces, posee importantes características ecológicas; tolerancia, adaptabilidad, resistencia y abundancia así también destacables características biológicas; valor nutricional, tamaño aceptable, cuerpo blando, elevadas densidades de cultivo, ciclo de vida corto, adecuada movilidad y no-selectivo (Luna *et al.* 2010), al estar presente en nuestro país lo hace un recurso con un importante potencial de cultivo. En el presente estudio se buscó dar a conocer el efecto de las dietas que no solamente se restringe a la cantidad de individuos producidos sino también, en determinar el contenido proteico y lipídico del cladóceros *M. macrocopa* para incrementar su producción y aprovechamiento, a fin de que se actualice la información documentada referente a los valores nutricionales de *Moina* sp. la cual es escasa y limitada.

V. Objetivos

General

- Evaluar el crecimiento poblacional y analizar el efecto de las dietas en el contenido proteico y lipídico del cladóceros *M. macrocopa*.

Específicos

- Determinar las curvas de crecimiento poblacional del cladóceros *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas.
- Determinar los parámetros poblacionales: Densidad máxima poblacional, Día de densidad máxima poblacional y Tasa de incremento poblacional por día (r) del cladóceros *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas.
- Cuantificar el porcentaje de proteínas y lípidos del cladóceros *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas.
- Establecer la dieta óptima para el crecimiento y nutrición del cladóceros *M. macrocopa*.

VI. Material y Método

Se utilizaron tres tipos de alimentos en la misma proporción, dos especies de microalga; *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus* sp. (Fig. 1 y 2) y una especie de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) los tipos de alimento en las dietas fueron ofrecidos de manera individual o mixta (Tabla 1) para el crecimiento poblacional del cladóceros *M. macrocopa* en un total de cinco dietas.

Obtención del alimento

Microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus* sp.

Los cultivos fueron iniciados a partir de cepas provenientes del Laboratorio de Producción Acuícola (Acuario) "Mtro. Luis Cifuentes Lemus" de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Las microalgas se cultivaron en reactores de vidrio con capacidad en 2 L y en medio basal Bold (anexo 4) a una densidad inicial de 2×10^6 cel/ml, la cual fue cuantificada con ayuda de una cámara de Neubauer (Fig.3). La microalga fue cultivada bajo condiciones de laboratorio a 25 ± 1 °C, luz y aireación constante (Fig. 4). Cada tercer día se le agregó medio gramo de bicarbonato de sodio por litro de medio de cultivo como fuente de carbono. La microalga se cosechó entre el séptimo y noveno día posteriores a la siembra hasta alcanzar la fase estacional. Se mantuvo en refrigeración, posteriormente se prosiguió a decantarla y concentrarla, finalmente se almacenó, se revisó y se cuantificó al microscopio óptico con una cámara de Neubauer.

Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Para preparación de la dieta con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (adquirida en polvo), se pesaron 2 g en una balanza analítica y fueron disueltos en un volumen de 200 ml de agua destilada posteriormente con una cámara de Neubauer se cuantificó el número de células al microscopio óptico, para la preparación de la dieta levadura a una concentración de 1.5×10^6 cel/ml.

Obtención del cladóceros

El cladóceros *M. macrocopa* fue aislado de una muestra del Lago Mayor de Chapultepec con ayuda de una red de abertura de malla de 100 μm (Fig. 5). Individuos morfológicamente similares fueron agrupados (Fig. 6). Los organismos fueron identificados en el Laboratorio de Zoología Acuática por medio de literatura especializada (Elías *et al.* 2008) al microscopio óptico y haciendo las disecciones correspondientes.

Los cladóceros fueron cultivados en peceras de 5 L en medio EPA (Anonymous 1979), el cual fue elaborado disolviendo 96 mg de NaHCO_3 , 60 mg de CaSO_4 , 60 mg MgSO_4 y 8 mg de KCl por litro en agua destilada. Los cultivos fueron dispuestos bajo condiciones de laboratorio a 12 h luz: 12 h oscuridad, 23 ± 1 °C y la aireación fue constante, para alimentarlos se les suministro *C. vulgaris* diariamente a una densidad de 2×10^6 cel/ml.

Diseño de los tratamientos

Se utilizaron cinco dietas con tres replicas cada una (Tabla 1) en un total de 15 recipientes de polietileno de 100 ml, se les vertió 50 ml de medio EPA con alimento en condiciones de laboratorio a 23 ± 1 °C y 12 hrs. luz (Fig. 7). Con una pipeta Pasteur se depositaron cladóceros de diferentes edades, inoculando el medio a una densidad inicial de 0.4 ind/ml. Cada 24 horas se realizaron conteos poblacionales usando un microscopio estereoscópico (Leica; EZ4), se reemplazo el medio en su totalidad con su respectivo alimento fresco (Fig. 8). Los experimentos fueron terminados cuando las poblaciones alcanzaron su fase de declinación. Para cada uno de las dietas se determinaron los siguientes parámetros: Densidad máxima poblacional, Día de densidad máxima poblacional y Tasa de incremento poblacional por día (r) (Krebs 1985). Para saber si existen diferencias en los tratamientos se utilizó el análisis de varianza (ANDEVA) y para conocer entre que tratamientos hubo diferencias se utilizó la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf 2000). Para la presentación de los datos fue utilizado el programa estadístico Sigma Plot Versión 11.

Tabla 1. Dietas probadas en el cladóceros *M. macrocopa*.

Dieta	Concentración cel/ml
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.5×10^6
<i>Scenedesmus</i> sp.	1.5×10^6
Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	1.5×10^6
<i>Chlorella vulgaris</i> + Levadura	1.5×10^6
<i>Scenedesmus</i> sp.+ Levadura	1.5×10^6

Para calcular la tasa de incremento poblacional por día (r) se utilizó la siguiente fórmula (Krebs 1985).

Tasa de incremento poblacional por día

$$r = \frac{(\ln N_t - \ln N_0)}{t}$$

Donde:

N_t = es el número de individuos de una población en el tiempo t.

N_0 = es el número inicial de individuos al inicio del experimento o día cero y

t =es la duración del experimento en días.

Para evaluar el análisis proximal de los cladóceros alimentados con las dietas (Tabla 1) fue necesaria la obtención de 1 g de biomasa en peso seco por dieta. Para esto se pusieron a crecer cada tratamiento en peceras de 5 y 10 L de capacidad.

Obtención de biomasa seca

La biomasa de los cultivos experimentales se obtuvo mediante la colecta semanal de organismos, filtrados y concentrados con una red de abertura 50 μm , fueron enjuagados con agua destilada para eliminar cualquier residuo de alimento o partículas en suspensión. Las muestras fueron congeladas (Fig. 9). Para cuantificar las proteínas y lípidos se deshidrató la muestra hasta obtener un gramo de peso seco.

Análisis proximal de proteínas y lípidos

En la realización del análisis proximal, la cuantificación de proteínas se realizó mediante el método de micro Lowry (Olvera *et al.* 1993) (anexo 5), Fig. 11, 12 y 13. Y para la cuantificación de lípidos totales se utilizó el método de Bligh y Dyer (1959) (anexo 6), Fig. 14 y 15.

VII. Resultados

Moina macrocopa

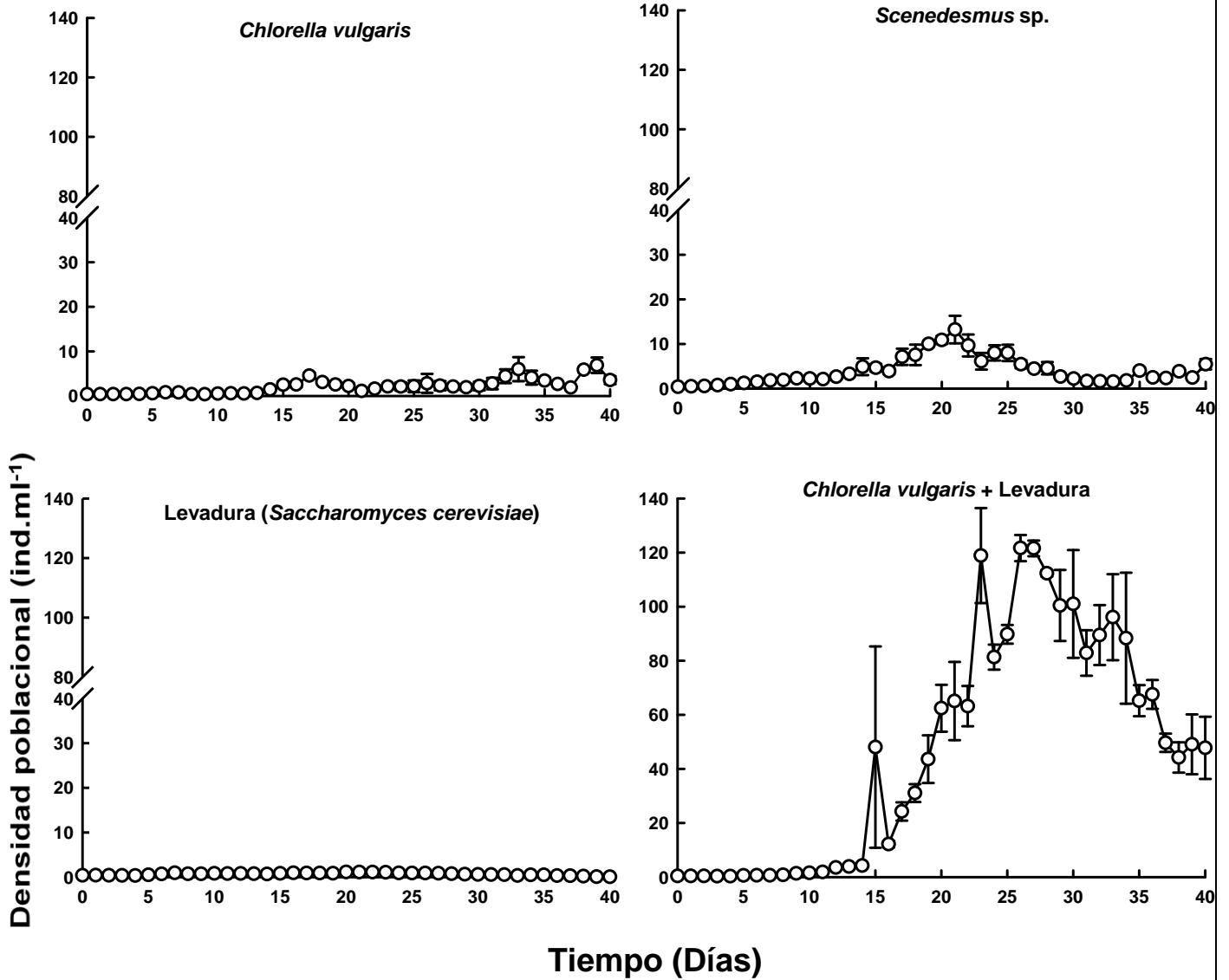


Fig. 16. Curvas de crecimiento poblacional del cladócero *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas. Se muestra el promedio y error estándar.

M. macrocopa

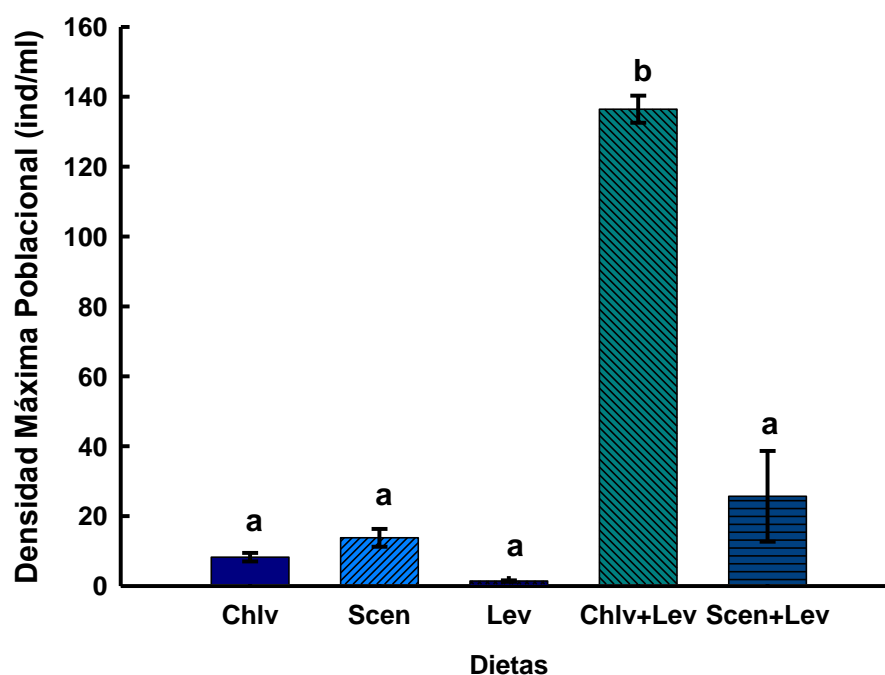


Fig. 17. Densidades máximas poblacionales en el cladóceros *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas (las barras que presentan la misma letra no son significativas), se muestra el promedio y error estándar.

Tabla 2. ANDEVA de las densidades máximas poblacionales de *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas diferentes. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, F= F-ratios, *P<0.05, **P<0.01 y ***P<0.001.

ANDEVA de la densidad máxima poblacional del cladóceros <i>M. macrocopa</i>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre dietas	4	37957.43	9489.35	82.54	<0.001***
Residual	10	1149.58	114.95		
Total	14	39107.02			

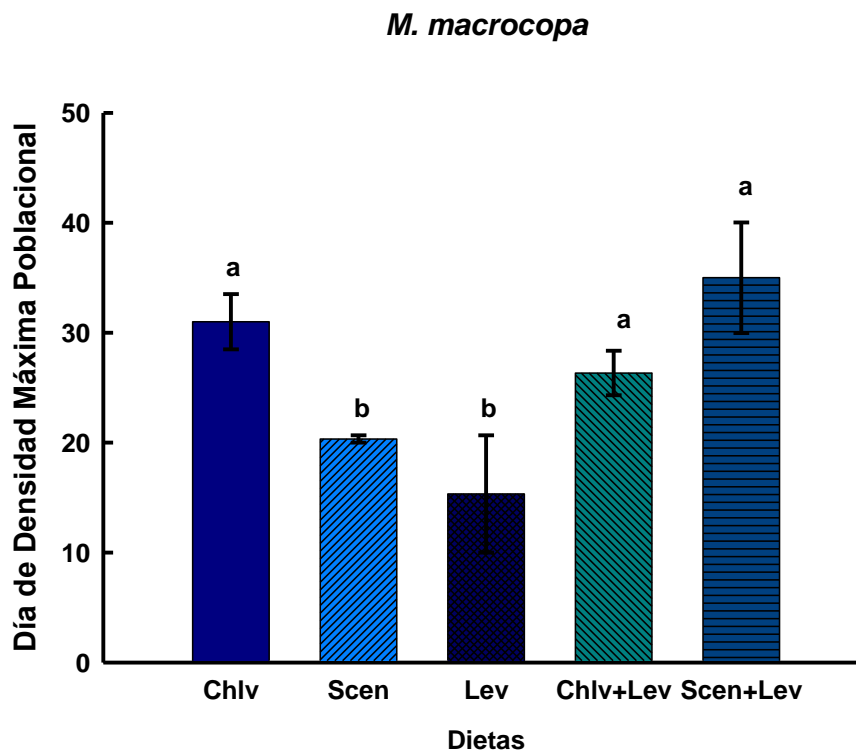


Fig. 18. Día de densidad máxima poblacional en el cladócero *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas (las barras que presentan la misma letra no son significativas), se muestra el promedio y error estándar.

Tabla 3. ANDEVA de día de densidad máxima poblacional de *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas diferentes. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, F= F-radios, *P<0.05, **P<0.01 y ***P<0.001.

ANDEVA del día de densidad máxima poblacional del cladócero <i>M. macrocopa</i>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre dietas	4	753.60	188.40	4.88	0.019*
Residual	10	386.0	38.60		
Total	14	1139.60			

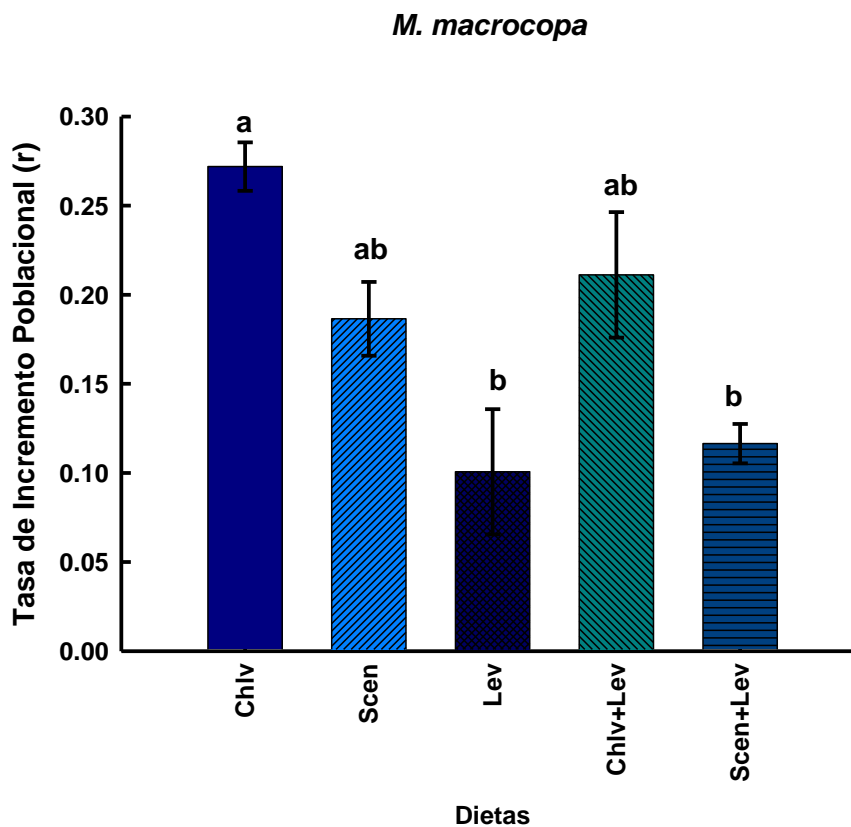


Fig. 19. Tasa de incremento poblacional por día (r) del cladócero *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas (las barras que presentan la misma letra no son significativas), se muestra el promedio y error estándar.

Tabla 4. ANDEVA de la Tasa de incremento poblacional (r) por día de *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas diferentes. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, F= F-radios, *P<0.05, **P<0.01 y ***P<0.001.

ANDEVA de la tasa de incremento poblacional del cladócero <i>M. macrocopa</i>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre dietas	4	0.05	0.01	7.68	0.004**
Residual	10	0.01	0.0		
Total	14	0.07			

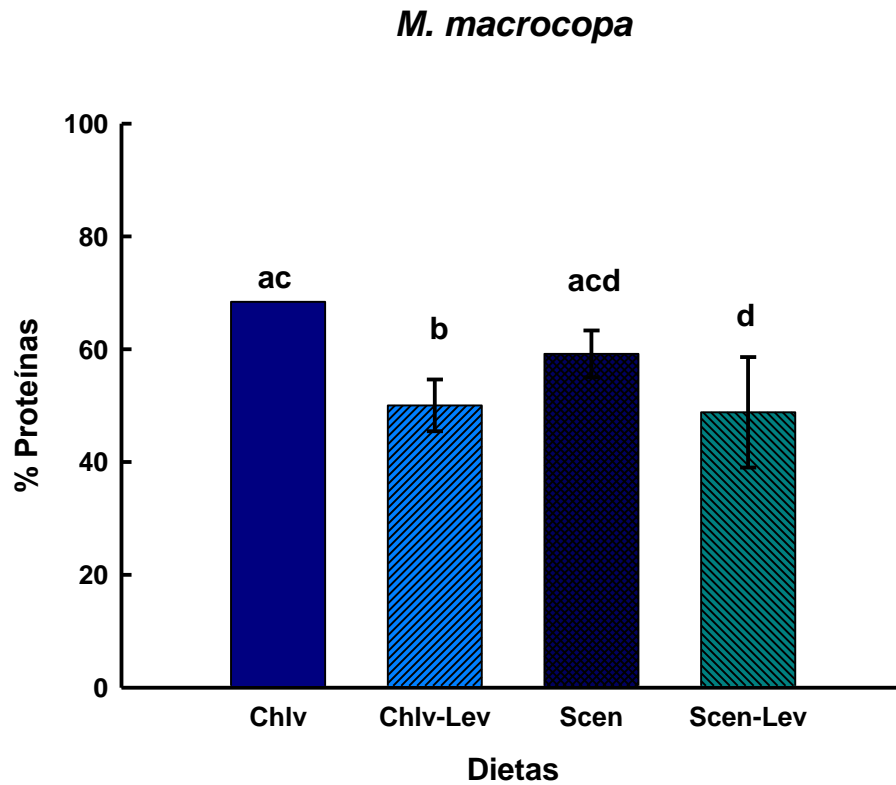


Fig. 20. Análisis proximal de proteínas del cladócero *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas (las barras que presentan la misma letra no son significativas), se muestra el promedio y error estándar.

Tabla 5. ANDEVA de la concentración de proteínas de *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas diferentes. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, F= F-radios, *P<0.05, **P<0.01 y ***P<0.001.

ANDEVA de la concentración de proteínas del cladócero <i>M. macrocopa</i>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre dietas	3	964.66	321.55	6.86	0.009**
Residual	10	468.26	46.82		
Total	13	1432.93			

M. macrocopa

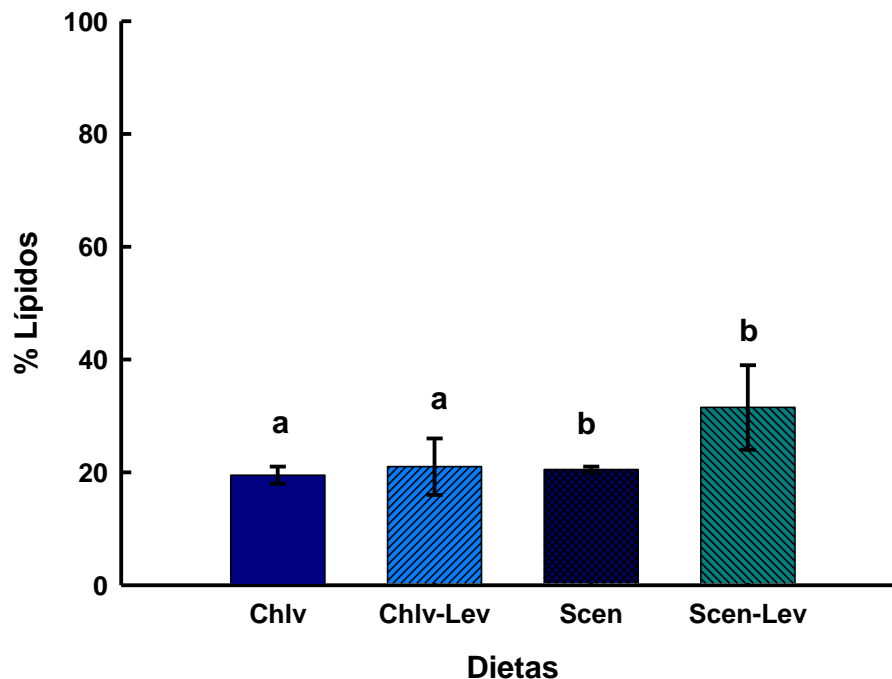


Fig. 21. Análisis proximal de lípidos del cladócer *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas (las barras que presentan la misma letra no son significativas), se muestra el promedio y error estándar.

Tabla 6. ANDEVA de la concentración de lípidos de *M. macrocopa* alimentado con cinco dietas diferentes. GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrados medios, F= F-radios, *P<0.05, **P<0.01 y ***P<0.001.

ANDEVA de la concentración de lípidos del cladócer <i>M. macrocopa</i>					
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre dietas	3	378.75	126.25	4.52	0.024**
Residual	12	335.0	27.91		
Total	15	713.75			

VIII. Análisis

Crecimiento poblacional y Densidad máxima poblacional

El cladóceros *M. macrocopa* presentó diferentes respuestas en sus parámetros poblacionales al ser alimentada con las cinco dietas (Tabla 7).

Las curvas de crecimiento poblacional del cladóceros *M. macrocopa* y los valores de la densidad máxima poblacional se muestran en las figuras 16 y 17. Se observó que las dietas mixtas presentaron las densidades más altas *Scenedesmus* sp. + levadura (25.66 ± 12.97 ind/ml) y *C. vulgaris* + levadura (136.44 ± 3.89 ind/ml), disminuyendo la densidad en las dietas Levadura, *Scenedesmus* sp. y *C. vulgaris*.

El análisis de varianza ANDEVA mostró diferencias significativas entre las densidades máximas poblacionales ($P < 0.001$) (Tabla 2) y la prueba de Tukey mostró diferencias entre la dieta mixta *C. vulgaris* + levadura y todos los demás tratamientos (Fig.17).

Día de densidad máxima poblacional

Las dietas Levadura, *Scenedesmus* sp. y *C. vulgaris* + levadura obtuvieron la densidad máxima en menor tiempo (15 ± 5.33 , 20 ± 0.33 y 26 ± 2.02) respectivamente (Fig. 18). Mientras para las dietas: *C. vulgaris* y *Scenedesmus* sp.+ levadura se alcanzó hasta los días 31 ± 2.51 y 35 ± 5.03 . El análisis estadístico para éste parámetro mostró diferencias significativas ($P = 0.019$) (Tabla 3). Las dietas *C. vulgaris* y las dietas mixtas no presentaron diferencias significativas entre ellas. Sin embargo, estas tres dietas si presentaron diferencias con respecto a las dietas *Scenedesmus* sp. y Levadura.

Tasa de incremento poblacional por día (r)

En la Tasa de incremento poblacional (r) por día (Fig. 19) se observó que la dieta *C. vulgaris* obtuvo la tasa de incremento poblacional por día máxima (0.27 ± 0.01), seguida por la dieta mixta *C. vulgaris* + levadura (0.21 ± 0.03) y la dieta que presentó la tasa de incremento poblacional mínima fue la dieta Levadura (0.10 ± 0.03). De acuerdo con el análisis de varianza existen diferencias significativas entre las tasas de incremento poblacional por día ($P = 0.004$) (Tabla 4).

Porcentaje de proteínas y lípidos

El porcentaje estimado de proteínas en *M. macrocopa* cultivada con la dieta *C. vulgaris* fue del 68.4%, seguido por *Scenedesmus* sp. ($59.1 \pm 4.1\%$). Los valores de las dietas Mixtas (*Scenedesmus* sp. + levadura y *C. vulgaris* + levadura) fueron 48.8 ± 9.7 y $50.0 \pm 4.5\%$ (Fig. 20). El análisis de varianza ANDEVA para el porcentaje de proteínas en *M. macrocopa* mostró diferencias significativas ($P = 0.009$) (Tabla 5), la prueba de Tukey reveló diferencias significativas en el porcentaje de proteínas entre *C. vulgaris*, *C. vulgaris* + levadura y *Scenedesmus* sp. + levadura.

El porcentaje de lípidos cuantificados en el cladócero *M. macrocopa* alimentado con las dietas se muestra en la Fig. 21. Para las dietas *C. vulgaris*, *Scenedesmus* sp. y *C. vulgaris* + levadura los valores registrados fueron 19.5 ± 1.5 , 20.5 ± 0.5 y $21.0 \pm 5.0\%$ respectivamente. Mientras que para *Scenedesmus* sp. + levadura se obtuvo un porcentaje mayor (31.5 ± 7.5), siendo las dietas mixtas las que presentaron el porcentaje más alto de lípidos. El análisis estadístico ANDEVA para la concentración de lípidos en *M. macrocopa* mostró diferencias significativas entre las dietas ($P = 0.024$) (Tabla 6), la prueba de Tukey mostró diferencias entre las dietas: *Scenedesmus* sp. + levadura contra *C. vulgaris* y *Scenedesmus* sp. ($P < 0.05$).

Debido a que el crecimiento poblacional de *M. macrocopa* cultivado con la dieta Levadura fue escaso y únicamente de mantenimiento se imposibilitó a un adecuado crecimiento poblacional para la realización del análisis proximal de proteínas y lípidos.

IX. Discusión

Densidad máxima poblacional

En el presente estudio la densidad máxima poblacional más alta fue en las dietas mixtas que en las dietas exclusivamente de microalga, estos resultados concuerdan con Peña *et al.* (2005) quienes trabajaron con dietas similares (*C. vulgaris*, *S. acutus* y *S. cerevisiae*) y obtuvieron los mejores resultados del crecimiento poblacional de *M. macrocopa* con las dietas mixtas, se confirmó la influencia de la Levadura que actuó en combinación con la microalga para potencializar la fecundidad de *M. macrocopa*. En este trabajo la densidad máxima alcanzada fue con la mezcla *C. vulgaris* + levadura, lo cual concuerda con Prieto *et al.* (2006) en el cultivo de *Moina* sp., quienes obtuvieron también densidades altas con la dieta mixta (*Ankistrodesmus* sp. + levadura), a diferencia de las microalgas ofrecidas por separado como *C. vulgaris* (8.22 ± 1.22 ind/ml) y en el caso de Prieto *et al.* (2006) *Ankistrodesmus* sp. presentó 6.22 ± 0.82 ind/ml, además las dietas que tuvieron *C. vulgaris* presentaron densidades más altas que las que contenían *Scenedesmus* sp., esto concuerda con lo reportado por Mangas *et al.* (2002); Nandini y Sarma (2003) y Morales *et al.* (2012). Para *Scenedesmus* sp. se obtuvieron densidades mayores a las reportadas por Jiménez *et al.* (2003) y Romero-López (2009), también se observó la producción de efipios (Fig. 22) lo cual coincide con Jiménez *et al.* (2003) donde describen la producción de huevos de resistencia como una estrategia poblacional (en éste caso de cladóceros) ante condiciones desfavorables y por eso las hembras partenogenéticas (Fig. 23) en lugar de producir huevos partenogenéticos cambian a reproducción sexual (Fig. 24).

Día de Densidad máxima poblacional

La dieta mixta *Scenedesmus* sp. + levadura fue la dieta que tardó más tiempo en alcanzar su densidad máxima (35 ± 5.03 días) sin embargo, *Scenedesmus* sp. alcanzó la densidad máxima en menor tiempo, autores como Jiménez *et al.* (2003) y Romero-López (2009) obtuvieron al décimo día la densidad máxima (Fig. 18). Las dietas *C. vulgaris* y las dietas mixtas no presentaron diferencias significativas entre ellas sin embargo, estas tres dietas si presentaron diferencias con respecto a las dietas *Scenedesmus* sp. y Levadura.

Tasa de incremento poblacional (r)

En el presente estudio se obtuvieron tasas de crecimiento de 0.10 a 0.27 lo cual concuerda con Flores *et al.* (2003), donde menciona que la mayoría de las especies de cladóceros tienen tasas de incremento poblacional menores a 0.5, Flores *et al.* (2003) menciona que esta respuesta puede ocurrir en especies de *Moina* y *Daphnia*, donde explica que el tamaño de las camadas es grande para alcanzar altas tasas de crecimiento. Así mismo, Prieto *et al.* (2006) menciona que la tasa de incremento poblacional está influenciada por la calidad del alimento condicionando el tiempo de desarrollo de un juvenil al igual que la tasa de reproducción y la frecuencia reproductiva.

La tasa de incremento poblacional en la dieta *C. vulgaris* es mayor a las tasas reportadas por Mangas *et al.* (2002) y Nandini y Sarma (2003) y es una tasa menor a las reportadas por Nandini y Sarma (2000 y 2002) y Morales *et al.* (2012). La dieta mixta *C. vulgaris* + levadura presentó una tasa menor a la obtenida solo con *C. vulgaris* (0.21 ± 0.03), de acuerdo con Peña *et al.* (2005) las dietas mixtas permiten tasas de crecimiento similares a las dietas algales. Sin embargo, autores como Jiménez *et al.* (2003), Peña *et al.* (2005) y Prieto *et al.* (2006) comprobaron que el crecimiento de los cladóceros alimentados con levadura mejora al combinar la dieta con microalga. Las dietas *Scenedesmus* sp. y la dieta mixta *Scenedesmus* sp. + levadura mostraron tasas de crecimiento bajas a comparación de las dietas que contenían *C. vulgaris*, con estos resultados se comprobó que *C. vulgaris* es un alimento adecuado para cladóceros ya que presentó el valor más alto a diferencia de *Scenedesmus* sp. y las dietas mixtas coincidiendo con Peña *et al.* (2005) a demás de que por su tamaño pequeño (3 a 5 μm) no debe ser considerada como un alimento de uso exclusivo para el cultivo de rotíferos.

Análisis proximal de proteínas y lípidos

Se sabe que el uso de microalgas verdes en la acuicultura como *Chlorella* es importante ya que define el aporte nutricional en comparación con otro tipo de alimento como la levadura. De acuerdo con Enríquez *et al.* (2003) la levadura influye sobre los aspectos reproductivos porque actúa como un suplemento alimenticio y por eso es uno de los factores más importantes en el cultivo de cualquier especie, su cantidad y calidad puede afectar múltiples aspectos del desarrollo normal de los cladóceros interviniendo directamente en la sobrevivencia, crecimiento, fecundidad, tasa de filtración y viabilidad de los huevos (Prieto 2001). En el presente estudio, ambas especies de microalgas verdes *C. vulgaris* y *Scenedesmus* sp. fueron cultivadas en las mismas condiciones (proporción de nutrientes, aireación, luz y temperatura) y se obtuvieron resultados diferentes en el

análisis proximal de proteínas y lípidos de los cladóceros de la especie *M. macrocopa* alimentados con las diferentes dietas, se observó una relación proporcional en cuanto al aumento de proteínas y disminución de lípidos en las dietas.

Proteínas

Las proteínas son importantes desde el punto de vista de la nutrición y fisiología debido a que son componentes de todo tipo celular. Cabe mencionar que trabajos de cuantificación de proteínas y lípidos en cladóceros son escasos limitándose sólo a la respuesta del crecimiento poblacional. Sin embargo, los trabajos reportados de análisis nutricional son en su mayoría de las dietas utilizadas (*Scenedesmus* sp., *C. vulgaris*, *S. cerevisiae*). Los cladóceros que presentaron las concentraciones más altas de proteínas fueron los cultivados con las dietas algales *C. vulgaris* y *Scenedesmus* sp. (68.4 ± 0 y $59.1 \pm 4.1\%$), comparado con Wantanabe *et al.* (1983) quienes reportaron en *Moina* sp. el 8.8% de proteínas alimentada con levadura. Así mismo, Wantanabe y Kiron (1994) cuantificaron en *Moina* sp. $71.6 \pm 4.7\%$ de proteínas y Luna *et al.* (2010) en *M. wierzejski* estimaron un 50% de proteínas. Como se puede observar aunque no hay estudios recientes los valores obtenidos en este trabajo están dentro del rango reportado.

La importancia de conocer el porcentaje de proteínas como mencionan Halver y Hardy (2002) radica en que las proteínas presentan numerosas funciones estructurales y metabólicas como enzimas que catalizan reacciones bioquímicas, transportadoras de moléculas que permiten su entrada y salida, otras para la señalización, respuesta inmune, en el ciclo celular, etc. En el crecimiento de los organismos cuando es excesiva la síntesis proteica se procede a la degradación y el balance entre esos dos procesos resulta en depositación y acreción por lo cual son biomoléculas determinantes para el peso vivo o biomasa, también por su importancia en la respuesta del organismo a diferentes estímulos.

En el presente trabajo fue cuantificada la concentración de proteína en los cladóceros cultivados con dietas. La importancia de este tipo de trabajos reside en que los cladóceros son utilizados en la acuicultura como cultivos para alimento de larvas de peces e invertebrados de valor comercial y así poder transferir los nutrientes al siguiente nivel trófico de acuerdo con Sarma y Nandini (2003); Prieto, *et al.* (2006); Romero-López (2009) y Rottman *et al.* (2011).

Lípidos

En este estudio los porcentajes de lípidos cuantificados más altos en el cladóceros *M. macrocopa* fueron con las dietas mixtas: *C. vulgaris* + levadura y *Scenedesmus* sp. + levadura con respecto a esto, Wantanabe *et al.* (1983) reportaron para *Moina* sp. 2.9 % de lípidos al ser cultivada sólo con levadura; Wantanabe y Kiron (1994) cuantificaron la concentración de lípidos de *Moina* sp. en $20.6 \pm 6.5\%$; Macedo y Pinto (2000) revelaron la concentración de lípidos de *M. micrura* en 12% alimentada con *Ankistrodesmus* sp. Así mismo, hay otros estudios como el de Romero-López (2009) donde reportó el porcentaje lipídico de *Moina* sp. del 20-27% en adultos y 4-6% en juveniles sin mencionar el tipo de dieta utilizada, como se puede observar los valores obtenidos para *M. macrocopa* son mayores a los reportados.

El contenido lipídico para el cladóceros alimentado con la dieta *C. vulgaris* fue de 19.5% y para *Scenedesmus* sp. el 20.5% comparado con lo reportado por Macedo y Pinto (2000) en *M. micrura* (6.86 %) alimentada con *Scenedesmus* sp., se observa que en *M. macrocopa* se obtuvo un 200 % más de lípidos. Es importante la cuantificación de los lípidos en los organismos como lo menciona Jiménez *et al.* (2003) donde afirma que los lípidos contenidos en *C. vulgaris* actúan directamente en la fecundidad de los cladóceros a los que les fue suministrada, ya que *Moina* sp. los requiere para su óptimo desarrollo. Halver y Hardy (2002) mencionan que los lípidos generan energía en forma de ATP son la mayor fuente de energía metabólica y participan en la reproducción y producción de huevo. Jiménez *et al.* (2003) mencionan que los lípidos estimulan a un crecimiento continuo o de mantenimiento en cladóceros pero a su vez también aceleran el proceso de maduración sexual de la gónada.

Las dietas a base de *Scenedesmus* sp. les proporcionaron a los cladóceros mayor longevidad y tamaño como mencionan Martínez y Gutierrez (1991) a comparación de *C. vulgaris* ya que a mayor concentración de la microalga *Scenedesmus* sp. se ha reportado que es mayor la longevidad y sobrevivencia en *M. macrocopa*, lo anterior fue reflejado y de manera indirecta observado en este trabajo concordando con Macedo y Pinto (2000) y Jiménez *et al.* (2003) donde explican que las reservas de energía de cladóceros son utilizadas en dos diferentes vías: a) en adultos para sus propias necesidades metabólicas y b) las reservas son transferidas a las crías a través de huevos y son usadas en el desarrollo inicial de animales jóvenes, por lo tanto como la dieta *Scenedesmus* sp. Infiuye en la longevidad de *M. macrocopa* las reservas de triglicerol se

utilizaron en el gasto del mantenimiento metabólico de *M. macrocopa* por lo que los tratamientos a base de *Scenedesmus* sp. no alcanzaron densidades poblacionales grandes.

En lo que respecta a la dieta con Levadura no fue posible cuantificar el porcentaje de lípidos ya que la población de cladóceros solo se mantuvo. El porcentaje de lípidos cuantificados en *Moina* sp. alimentada con levadura según la FAO (1989) corresponde al 2.9%, la levadura presenta importantes vitaminas como la vitamina B, colina y vitamina C las cuales son hidrosolubles y debido a esto no pueden ser almacenadas en cantidades considerables. Romero-López (2009) menciona que el déficit de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) en el fitoplancton afecta las tasas de crecimiento del zooplancton y Enríquez *et al.* (2003) mencionan que la dieta levadura es utilizada en el mantenimiento de organismos para la acuicultura y que no es la mejor dieta en calidad nutricional debido a que la pared celular de la levadura es más difícil de digerir y por esto requiere un tratamiento para mejorar su digestibilidad y aprovechamiento para los cultivos de zooplancton.

X. Conclusiones

En el cladócero *M. macrocopa* la dieta mixta *C. vulgaris* + levadura presentó el mejor crecimiento poblacional.

Con la dieta *C. vulgaris* se obtuvo la mayor tasa de incremento poblacional por día en *M. macrocopa*.

M. macrocopa presentó el porcentaje de proteínas más alto cultivada con la dieta *C. vulgaris* y el porcentaje de lípidos más alto con la dieta *Scenedesmus* sp. + levadura.

Las dietas *C. vulgaris* y la dieta mixta *C. vulgaris* + levadura son apropiadas para el cultivo *M. macrocopa*.

La dieta mixta *C. vulgaris* + levadura fue la dieta óptima para la producción y aprovechamiento de *M. macrocopa*.

En el presente trabajo existen limitaciones como la utilización de una sola cepa del cladócero *M. macrocopa*, tampoco fueron probadas estas dietas a diferentes concentraciones en otras especies de *Moina*, ni mucho menos en otras especies de cladóceros, así también como en otros grupos de alimento vivo como rotíferos y artemias a fin de que la información obtenida del presente estudio sea la base para futuras investigaciones.

XI. Referencias

1. Alva, M. A. F., Sarma, S. S. S. and Nandini, S. (2007). Effect of mixed diets (cyanobacteria and green algae) on the population growth of the cladocerans *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*. Springer Science. Aquat Ecol. 41:579–585.
2. Anonymous. 1979. Test 6: *Mysidopsis bahia* life cycle. Fed. Reg. 44(53):16291. En United States Environmental Protection -Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. (1993) EPA/600/4-90/027F, 4° Edition by Cornelius I. Weber. Environmental Monitoring Systems Laboratory -Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio 45268. 253 pp.
3. Bigogno C., Khozin-Goldberg I., Boussiba S., Vonshak A. y Cohen Zvi. (2002). Lipid and fatty acid composition of the green oleaginous alga *Parietochloris incisa*, the richest plant source of arachidonic acid. Israel.Phytochemistry (60): 497–503.
4. Borowitzka, M.A, Borowitzka, L.J. (1988). Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press; London. p.456-465.
5. Chisti Y. Biodiesel from microalgae (2007). Institute of Technology and Engineering, Massey University, New Zealand Biotechnology Advances (25) 294–306.
6. Dodson I. S and Frey G. D. (2001) Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (Cladocera and Branchiopoda) 2° ed. Academic Pres, USA. (22):849-913p.
7. Elías, G. M., Suarez, M. E., Gutiérrez, A. M. A., Silva, B. M., Granados, R. J. G., Garfias, E. T. (2008).Cladóceros y Copépodos Guía ilustrada. México 61-65 (322) pp.
8. Enríquez G. C., Nandini S. and Sarma S. S. S. (2003). Food type effects on the population growth patterns of littoral rotifers and cladocerans. Acta hydrochim. Hydrobiol. (31): 2, 120-130.
9. Faife P. E., Otero R. M. A. y Alvarez D. A. (2012). Producción de biodiesel a partir de organismos. Una fuente de energía renovable. Parte I (Levaduras y bacterias). Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de Caña de Azúcar. La Habana, Cuba. Vol. 46, núm. 1, enero-abril, 22-32pp.
10. FAO (1989), Cultivo de microcrustáceos de agua dulce. La producción de alimento vivo y su importancia en la acuicultura. Departamento de pesca.
11. Flores, B. J., Sarma, S.S.S and Nandini, S. (2003). Population Growth of Zooplankton (Rotifers and Cladocerans) Fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in Different Proportions. Acta hydrochim. Hydrobiol. 31, (3): 240–248.
12. Fenucci, L. J. y Fernández G. A. (2004). Acción de las vitaminas en la dieta de los camarones penaeoideos. Departamento de Ciencias Marinas, Facultad de Ciencias Exacta y Naturales, Universidad Nacional de Mar de la Plata, Argentina.
13. Fernández-Araiza M. A. International Workshop on Field Cultivation Technology of Rotifers for Use as Food in Aquaculture. Chapter 2 Microalgae culture. UNAM. Campus Iztacala Acuario de Veracruz.1997
14. Galan-Wong L. J. 1981. Obtención de proteína unicelular de *Saccharomyces exiguus* crecida en etanol como principal fuente de carbono y energía. Tesis de Maestría en Ciencias (Q.B.P.), Facultad de Ciencias Químicas, UANL, México. 51 p.
15. Gouveia L. y Oliveira A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production (2009). Microbiol Biotechnol. Departamento de Energias Renováveis, Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação, Portugal (36): 269–274.

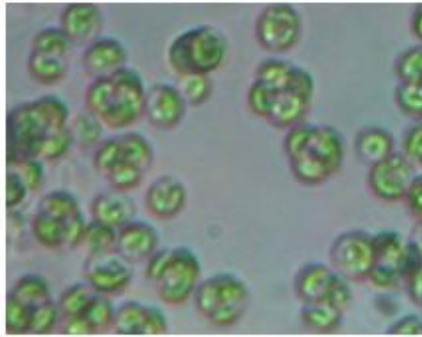
16. Gama, F. J. L., Pavón M. E. L., Ramírez P. T. y Angeles L. O. (2010). Análisis de calidad de agua relación entre factores bióticos y abióticos. UNAM. 112 pp.
17. Góngora L. E., Uría G. E. A., Martínez J. F. F. y López V. E. O. (2010) Descripción histológica de la cámara incubatriz de *Moina hutchinsoni* (Brem, 1937). Int. J. Morphol., 28 (4):1025-1030, 2010.
18. Grant S. D. (2001) Pennak's Freshwater Invertebrates of the United States Porifera to Crustacea (Cladoceran Branchiopoda). 4^o ed. John Wiley & Sons, Inc (18) 453-488p.
19. Habib, M.A.B, Yusof. F.B., Phang S.M. and Mohamed S. 2003. Growth and Nutritional Values of *Moina micrura* Fed and *Chlorella vulgaris* Grown in Digested Palm Oil Mill Effluent. Asian Fisheries Society, 16: 107-119.
20. Halver, J. E. y R. W. Hardy. (2002). Fish nutrition. 3^o ed. Academic Press, USA. 824pp.
21. Jiménez, D., Rosas, J., Velásquez, A., Millán, J. y Cabrera, T. (2003). Crecimiento poblacional y algunos aspectos biológicos del cladóceros *Moina macrocopa* (Straus, 1820)(Branchiopoda, Anomopoda), alimentado con tres dietas en tres salinidades diferentes. Universidad de oriente Venezuela, Ciencia 11(1), 22-30. Maracaibo Venezuela.
22. Krebs, C. J. (1985). Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. Harper and Row, New York.
23. Lampert W. and Sommer U. (2007). Limnoecology Oxford University, New York, 2 ed. 324 pp.
24. Loh J. Y. (2011) Fatty Acid Enrichment and Potential Food Source for *Moina macrocopa* Cultivation. Tesis de Maestría. Department of Bioscience and Chemistry, Faculty of Engineering and Science, Universiti Tunku Abdul Rahman.
25. Luna F. J., Vargas Z. T. de J. y Figueroa T. J. (2010) Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). Avances en investigación agropecuaria AIA 14 (3): 63-72.
26. Macedo, C. F. and Pinto, C. R. M. (2000). Nutritional Status Response of *Daphnia laevis* and *Moina micrura* from a tropical reservoir to different algal diets: *Scenedesmus quadricaudata* and *Ankistrodesmus gracilis*. 61(4): 555-562.
27. Magaña-López C. (2014). Tesis de licenciatura Crecimiento poblacional y contenido de proteínas y lípidos de cuatro microalgas en diferentes tipos de cultivos. UNAM 55 pág.
28. Mangas R. E., Sarma S. S. S. and Nandini S. (2002). Combined effects of Algal (*Chlorella vulgaris*) Density and Ammonia Concentration on the Population Dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). Ecotoxicology and Environmental Safety 51, 216 222 (2002).
29. Martínez J. F. and Gutiérrez V. A. (1991). Fecundity, reproduction, and growth *Moina macrocopa* fed different algae. Hydrobiologia 222: 49-55.
30. Monroig-Marzà O. (2007). Tesis Doctoral Diseño y Optimización de los Liposomas para su Uso como Sistemas de Suministro de Nutrientes a Larvas de Peces Marinos. Departamento de Biología, Cultivo y Patología de Especies Marinas. Universidad de Valencia. 224 pág.
31. Morales V. J., Nandini S., Sarma S.S.S. & Castellanos P. M. E. (2012) Demography of zooplankton (*Anuraeopsis fissa*, *Brachionus rubens* and *Moina macrocopa*) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* cultured on different media. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 60 (3): 955-965.

32. Muñoz P. M., Ramírez M. J., Otero P. A., Medina R. V., Cruz C. P. y Velasco S. Y. (2012). Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y el contenido proteico de *Chlorella vulgaris*. Universidad de Antioquia, Medellín Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (rccp), 25 (3) 438-449.
33. Nandini S. and Sarma S.S.S. (2002) Life table demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*). Hydrobiologia 435: 117-126.
34. Nandini S. and Sarma S. S. S. (2002). Competition between *Moina macrocopa* and *Ceriodaphnia dubia*: a Life Table Demography Study. Internat. Rev. Hydrobiol. (87):85-95.
35. Nandini, S. and Sarma, S.S.S. (2003). Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. Hydrobiologia 491: 211–219.
36. Nandini S. and Sarma S. S. S. (2006). Ratio of neonate to adult size explains life history characteristics in cladoceran zooplankton. Acta hydrochim. Hydrobiol. (34): 474-479.
37. Navarro G., Tizol R. y Díaz D. (1997). Análisis de indicadores nutricionales en Artemia. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR. Centro de Investigaciones Pesqueras, Barlovento, Santa Fe, Playa, La Habana, Cuba. Vol. 26 n°1.
38. Olivares R. E. 2010. Producción de aceite para usos industriales a partir de la microalga Scenedesmus obliquus. Tesis profesional (Ingeniería química), Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de el Salvador, San Salvador 105 p.
39. Olvera N. M. A, M. Martínez P.C. A. y Real D.E. (1993). Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Departamento De Pesca. Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación. México, D.F. No.7 p.110.
40. Otero P. A., Muñoz P. M., Medina R. V., Cruz C. P. (2013) Efecto del alimento sobre variables productivas de dos especies de cladóceros bajo condiciones de laboratorio. Universidad de los llanos Instituto de Acuicultura. Grupo de Investigación sobre Reproducción y toxicología de Organismos Acuáticos. Colombia. Rev. MVZ (18): 3642-3647.
41. Peña, A. F., Nandini, S. and Sarma, S.S.S. (2005). Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. Limnologica 35 pp. 298-303.
42. Pianka E. R. (1982). Ecología evolutiva. Principios de la ecología de poblaciones. Universidad de Texas, Ed. Omega, S.A., Barcelona, 93-164 (365) pp.
43. Prieto Martha J. Aspectos reproductivos del cladóceros *Moinodaphnia* sp. en condiciones de laboratorio. (2001). Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Acuicultura. MVZ-CÓRDOBA; 6:(2), 102-110.
44. Prieto M., De la Cruz L., Morales M. (2006) Cultivo Experimental del Cladóceros *Moina* sp Alimentada con *Ankistrodesmus* sp y *Saccharomyces cerevisiae*. Revista MVZ Córdoba enero-junio, vol. 11, n°001, Universidad de Córdoba, Montería Colombia, pp.705-714.
45. Quevedo O. C, Morales V. S. P. y Acosta C. A. (2008). Crecimiento de Scenedesmus sp. en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. Universidad de Antioquia, Medellín Colombia. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica (VITAE), 15 (1) 25-31.
46. Riccardi N. and Mangoni M. (1999). Considerations on the biochemical composition of some freshwater zooplankton species. CNR Istituto Italiano Idrobiologia, Largo Tonolli 50, 28922 Verbania Pallanza (VB), Italy. J. Limnol., 58 (1): 58-65.

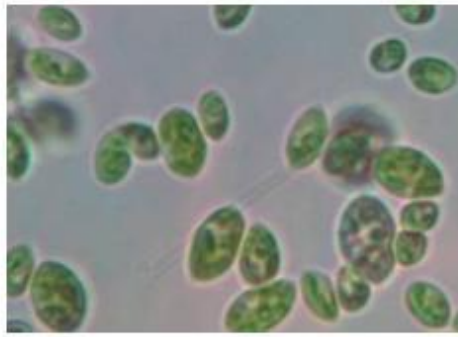
47. Rodríguez E. J., Villaseñor C. R. y Martínez J. F. (2003) efecto de la temperatura y el tipo de alimento en el cultivo de *Moina micrura* (Kurz, 1874) (Anomopoda: Moinidae), en condiciones de Laboratorio. Laboratorio de Hidrobiología Experimental, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I.P.N. Hidrobiológica, 13 (3): 239-246.
48. Romero. L. T. J. (2009). Desarrollo de *Moina* sp en condiciones de laboratorio alimentada con microalgas cultivadas en residuales pesqueros. Revista Electrónica de veterinaria. Vol. 10, N°4.
49. Rottman R. W., J. Scott Graves, Craig Watson and Roy P.E. Yanong. (2011). Culture Techniques of *Moina*: The Ideal Daphnia for Feeding Freshwater Fish Fry. University of Florida. Tropical Aquaculture Laboratory. Florida.
50. Sarma S. S. S., Nandini S. and Gulati R. D. (2002). Cost of reproduction in selected species of zooplankton (rotifers and cladocerans). Hydrobiologia (481): 89-99.
51. Sarma, S.S.S. & Nandini, S. (2004). Competition between *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa*: A population growth study. In: B. L. Kaul (ed.). Advances in fish and wildlife ecology and biology. Vol. 3. Daya Publishing House, Tri Nagar, Delhi, India: pp. 90-101 (Chapter 8).
52. Sarma, S.S.S., Nandini, S. & Gulati, R. D. (2005). Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. Hydrobiologia. 542:315–333.
53. Smith D. G. (2001). Pennak's Freshwater Invertebrates of the United States. Chapter 18 Cladoceran Branchiopoda (Water fleas), (368): 453-489 pp.
54. Sokal, R.R. y Rohlf, F. J. (2000). Biometry. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
55. Tonheim, S.K., Koven, W. & Ronnestad, I. (2000). Enrichment of *Artemia* with free methionine. Aquaculture 190. 223-235.
56. Wantanabe T., Kitajima C. and Fujita S. (1983). Nutritional values of lives organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture (34): 115-143.
57. Wantanabe T. and Kiron (1994). Prospects in larval fish dietetics. Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108, Japan. Aquaculture (124): 223-251.

XII. Anexos

Anexo 1. Fotográfico



C. vulgaris (Fig. 1)



Scenedesmus sp. (Fig. 2)



Conteo de microalga (Fig. 3)



Condiciones controladas (Fig. 4)



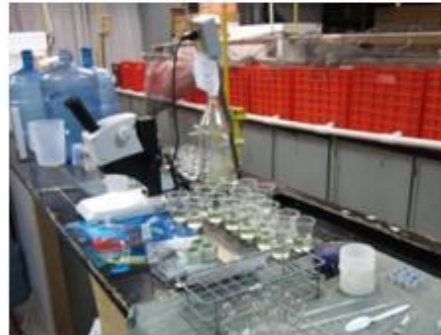
Muestreo (Fig. 5)



M. macrocopa (Fig. 6)



Preparación de dietas (Fig. 7)



Conteo de cladóceros
(Fig. 8)



Obtención biomasa
(Fig. 9)



Biomasa seca (Fig. 10)



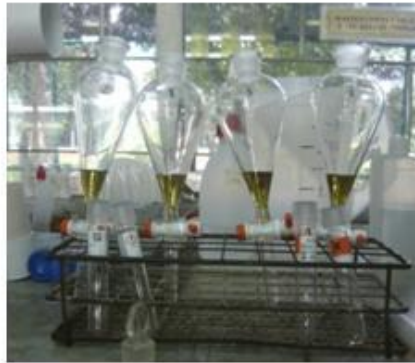
a) Micro Lowry (Fig. 11)



b) Micro Lowry (Fig. 12)



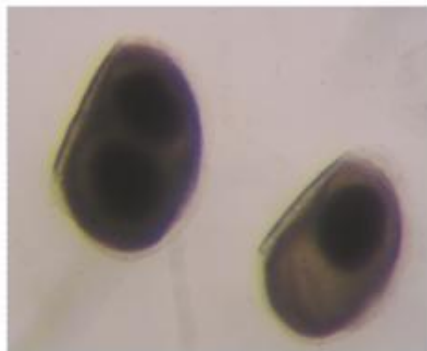
c) Micro Lowry (Fig. 13)



a) Lípidos totales (Fig. 14)



b) Lípidos totales (Fig. 15)



Efipio (Fig. 22)



Hembra (Fig. 23)



Macho (Fig. 24)

Anexo 2. Características del grupo Cladocera

Los cladóceros son organismos que no tienen claramente segmentado su cuerpo y apéndices, aunque ellos poseen segmentada la segunda antena, las características de la mayoría de los cladóceros incluyen un simple ojo central compuesto en adultos y un caparazón transparente, el cual es usado como cámara incubatriz, muchas especies presentan de 4-6 pares de apéndices torácicos cubiertos por el caparazón. Éstos al ser crustáceos se diferencian de otros artrópodos porque tienen dos pares de antenas. El primer par de antenas (anténulas) las cuales son cortas y con una función quimiosensorial y el segundo par de antenas conocida así mismo son largas y utilizadas para nadar (Dodson y Frey 2001).

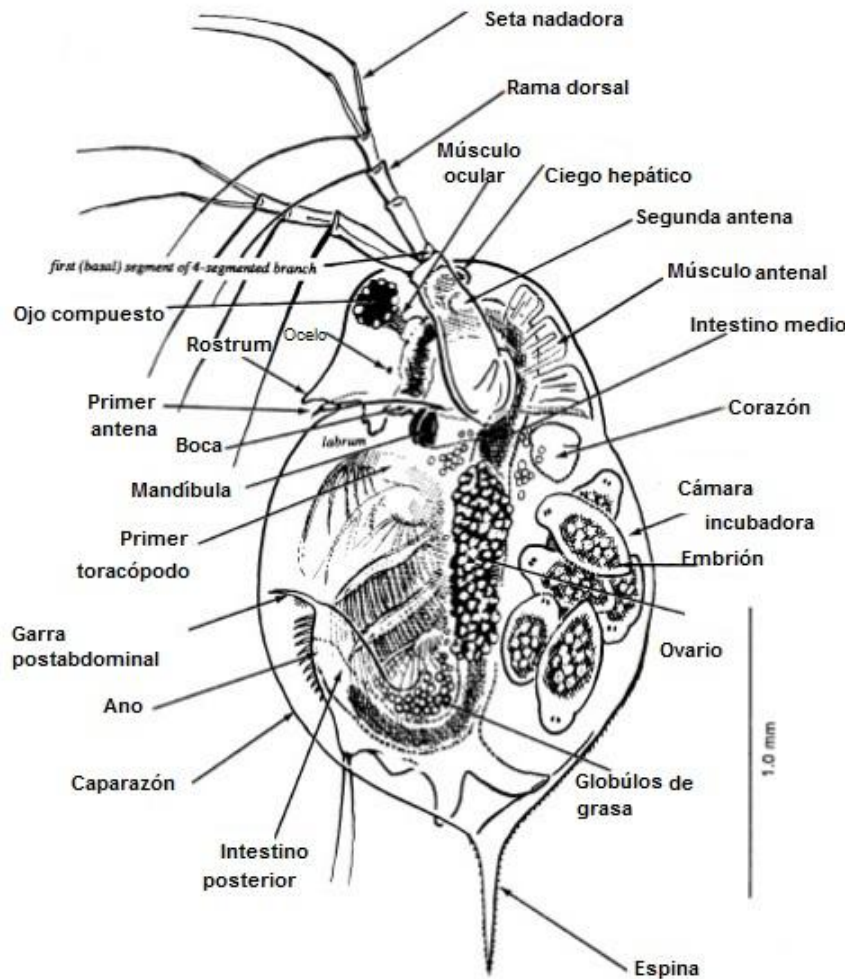


Fig.25 Anatomía de *Daphnia*

Por otro lado los cladóceros presentan tres tipos de huevos:

Huevo diploide subitáneo, el cual desarrolla inmediatamente dentro un juvenil. Huevo de resistencia, el cual surge a partir de huevos haploides que son fertilizados, desarrollando en su interior embriones tempranos que entran en diapausa (estado fisiológicamente estático), el cual es resistente al calor, sequedad y congelamiento y Huevos de resistencia pseudosexuales, los cuales desarrollan embriones tempranamente en diapausa, a partir de huevos diploides (no fertilizados necesariamente), producidos asexualmente (Dodson y Frey 2001).

Anexo 3. Aspectos biológicos de *M. macrocopa*

M. macrocopa es un cladóceros ampliamente distribuida en aguas dulces a salobres. Con temperaturas de 5-30°C, pH de neutro a ligeramente alcalino. Es un filtrador no-selectivo y es usado ampliamente en acuicultura (Martínez y Gutiérrez 1991).

Su cuerpo presenta estructuras como cabeza, tronco (encerrado en dos valvas del caparazón), y el post abdomen. La cabeza usualmente parece lisa y redonda, y termina con una ligera depresión. Un enorme y esférico ojo, localizado en el ápice de la cabeza. El cual es un importante órgano que permite al organismo percibir la luz y por esto localizar recursos alimenticios y presenta numerosos e incoloros lentes. La cabeza de *Moina* tiene, grandes y movibles anténulas, seguidas por setas olfatorias bastante largas y uniformes. La segunda antena es el órgano primario para la locomoción tal como el nado. La diferenciación sexual es fácil de reconocer por la morfología externa donde las anténulas del macho son mucho más largas y robustas que las de la hembra. La longitud del cuerpo de la hembra varía a partir de 0.4 mm a alrededor de 1.65 mm. El cuerpo del macho es ligeramente pequeño que el de la hembra (0.4 a 1.13 mm), y tienen largos ganchos para sujetar a la hembra durante la copulación. Las hembras sexualmente maduras llevan únicamente dos huevos encerrados en un ezipio el cual es una parte dorsal del exoesqueleto (Loh 2011).

El crecimiento poblacional rápido y los tiempos generacionales cortos de la mayoría de cladóceros hacen que éstos sean producidos en cultivos masivos y a su vez considerados como alimento vivo (Loh 2011). Se ha reportado que los cladóceros del género *Moina* alcanzan su estado adulto a los cinco días posteriores a su eclosión, en un rango de temperatura de 22 a 33°C, en un pH ligeramente alcalino a neutro (6.6 a 7) en condiciones óptimas. De manera que, *Moina* una vez

alcanzada su madurez se reproduce dentro de cuatro a siete días, cada hembra produce camadas de 4 a 22 individuos, en un periodo de 1.5 a 2 días. A lo largo de su ciclo de vida esto sucede de 2 a 6 veces (Rottmann *et al.* 2003; Loh 2011). Además de que, la temperatura es un factor que también afecta el crecimiento y la reproducción en los cladóceros. Siendo óptima para el cultivo de *M. macrocopa* de 24-31°C (FAO 1989; Rottmann *et al.* 2003; Prieto *et al.* 2006). En el presente estudio no hubo fuertes cambios de temperatura ambiental, se mantuvo en $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Por lo cual la temperatura no fue un factor negativo en los tratamientos.

Categoría taxonómica del cladócero *M. macrocopa*:

Superclase Crustacea

Clase Branchiopoda

Superorden Cladocera

Orden Anomopoda

Familia Moinidae

Genero Moina

Especie *Moina macrocopa* (Straus, 1820).

Anexo 4. Medio de cultivo basal Bold (Borowitzka y Borowitzka 1988).

Consta de seis soluciones stock en agua (destilada o desionizada), la cual debe ser preparada disolviendo cada una de las siguientes sales por cada 400 ml de agua.

Nitrato de Sodio (NaNO_3)	10 g
Cloruro de Calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1 g
Sulfato de Magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	3g
Fosfato Bibásico de Potasio (K_2HPO_4)	3g
Fosfato Monobásico de Potasio (KH_2PO_4)	7g
Cloruro de Sodio (NaCl)	1g

Para 940 ml de agua estilada adicionar 10 ml de cada una de las soluciones stock y un ml de cada elemento traza de solución stock preparada del modo siguiente:

Acido etilendiaminotetraacético e hidróxido de potasio (EDTA + KOH)	50g en 31g o 50g de Na_2EDTA en 1l de agua.
($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Sulfato de Hierro + (H_2SO_4) Acido Sulfúrico	4.8 g disuelto en un litro de agua acidificada (1 ml de H_2SO_4 en agua destilada).
Acido Bórico (H_3BO_3)	11.42 g de ácido bórico disuelto en 1l de agua.

A continuación agregar las siguientes cantidades de los compuestos indicados en un litro de agua destilada.

Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	8.82 g
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	1.44 g
Trióxido de molibdeno (MoO_3)	0.71g
Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	1.57 g
Nitrato de cobalto $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.49 g

Ajustar a un pH de 7 antes de esterilizar

Medio para siembra de *C. vulgaris* y *Scenedesmus* sp.

En un litro de agua destilada agregar:

Nitrato de potasio (KNO_3)	810 mg
Nitrato de sodio (NaNO_3)	680 mg
Fosfato monosódico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$)	415 mg
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4\text{-7H}_2\text{O}$)	250 mg
Fosfato dibásico de sodio($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-2H}_2\text{O}$)	180 mg
Nitrato de calcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\text{-4H}_2\text{O}$	25 mg
(Fe-EDTA)	4 mg
Acido trioxobórico (H_3BO_3)	2.5 mg
Sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4\text{-7H}_2\text{O}$)	1 mg
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2\text{-4H}_2\text{O}$)	0.2 mg
Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4\text{-5H}_2\text{O}$)	0.1 mg
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\text{-4H}_2\text{O}$	0.03 mg

Anexo 5. Técnica de cuantificación de proteína por método de micro Lowry (Olvera et al.1993).

El método de Lowry con el reactivo de Folin-Ciocalteu se utiliza mucho en Europa. Este método está compuesto de dos reacciones: a) una reacción inicial de la proteína y el cobre. Relacionada con la reacción de biuret; b) una segunda reducción de los ácidos: fosfotúngstico y fosfohemolíbido con el complejo de cobre-proteína, así como con tiosina y triptófano. Está sujeto a interferencias variables derivadas de los fenoles y fármacos producidos endógenamente (salicilatos, cloropromacina, tetraciclina y sulfamidas).

1.-Reacción previa de la proteína en medio alcalino con iones Cu^{2+} en presencia de tartrato para evitar la precipitación. Es esencialmente idéntica a la reacción del Biuret, formándose un complejo de coordinación entre el cobre y el nitrógeno peptídico. 2.-Reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu para fenoles (ácido fosfomolibdotungstico), que se reduce por medio de los grupos fenol (y en menor medida imidazol e indol) presentes en la proteína como un complejo de color azul oscuro, que se mide colorimétricamente. El complejo coloreado cuya composición es desconocida, presenta dos máximos de absorción a las longitudes de onda de 560 y 680 nm. La elección de una u otra depende de la concentración proteica de la muestra estudiada.

Procedimiento:

Para la cuantificación de proteína se pesaron 100 mg de biomasa seca en una balanza analítica, se transfirió a un tubo de ensaye para agregarle un 1 ml de agua destilada y homogenizar con un pellet pestle motor por 2 min. Posteriormente se le Agregó 1 ml de reactivo de Lowry y se dejó reposar por 20 min para agregarle 0.5 ml de Folin y reposar por 30 min. Se aforó a 10 ml con agua destilada (7.5 ml) y se centrifugó durante un minuto a 2500 rpm, se colocó en una cubeta la pastilla para su lectura en el espectrofotómetro (Hach DR-2800) a una longitud de onda de 530 nm de absorbancia. Este procedimiento se hizo por duplicado para cada dieta.

Anexo 6. Técnica de cuantificación de lípidos totales por el método de Bligh y Dyer (1959).

Objetivo: Obtener la grasa de un alimento homogeneizado mediante extracción directa con disolventes en frío.

Campo de aplicación: Esta técnica fue aplicada a muestras de alimentos.

Fundamento: El método se basa en la homogeneización de alimentos húmedos con metanol y cloroformo en proporciones tales que forma una fase sencilla miscible con el agua en los alimentos, que al adicionar posteriormente cloroformo y agua se divide en dos fases con los materiales lipídicos en la capa de cloroformo.

Procedimiento:

Para la cuantificación de lípidos totales la biomasa seca fue pesada (200 mg) y depositada dentro de un tubo de ensaye. Se le agregó 1.5 ml de cloroformo, posteriormente 3 ml de metanol y se homogenizó durante 2 min para centrifugar por 10 min a 5 rpm. El contenido del tubo se vertió dentro de un embudo de separación donde previamente se agregó 0.8 ml de agua destilada se homogenizó a mano agitando suavemente hasta que fueron distinguibles 2 fases.

Nota: si no son distinguibles las fases agregar 1 o 2 gotas de agua y volver homogenizar a mano, el procedimiento debe ser repetido hasta obtener 2 fases. De lo contrario: si se forman 3 fases el procedimiento fue inadecuado.

La solución cloro-metanol: está hecha a base de cloroformo y metanol en una proporción 1:1. Se utiliza en gotas.

Al formarse las fases se libera la fase precipitada dentro de un tubo de ensaye, se le aplica aireación para evaporar el solvente hasta que sea visible una pastilla seca amarillenta (aproximadamente en 30 min). En frascos pequeños color ámbar previamente lavados y mantenidos a peso constante, se colocó el contenido lipídico del tubo con ayuda de la solución cloro-metanol enjuagando con 0.5 ml. una vez la muestra vertida en el frasco se mantiene en aireación hasta evaporar los solventes. Con guantes los frascos fueron manipulados y pesados en una balanza analítica, se hizo el siguiente cálculo:

$(\text{Peso lípidos} / \text{Muestra seca}) * 100 =$

Tabla 7. Parámetros poblacionales y porcentaje proteico y lipídico de *M. macrocopa*.

Parámetros poblacionales y porcentajes proteicos y lipídicos de <i>M. macrocopa</i>					
Dietas	Densidad máxima poblacional ind/ml	Día de densidad máxima poblacional	Tasa de incremento poblacional por día (r)	%Proteínas	%Lípidos
<i>C. vulgaris</i>	8.22±1.22	31.00±2.51	0.27±0.01	68.40	19.50±1.50
<i>Scenedesmus</i> sp.	13.77±2.56	20.33±0.33	0.18±0.02	59.16±4.15	20.50±0.50
Levadura	1.40±0.20	15.33±5.33	0.10±0.03		
<i>C. vulgaris</i> + levadura	136.44±3.89	26.33±2.02	0.21±0.03	50.04±4.59	21.00±5.00
<i>Scenedesmus</i> sp. + levadura	25.66±12.97	35.00±5.03	0.11±0.01	48.80±9.79	31.50±7.50